Aus dem Hygienischen Institut der Universität Göttingen
Direktor: Professor Dr. F. Schütz

Ein Beitrag zum Mechanismus der Wirkung des Paraminophenylsulfonamids, zugleich eine Untersuchung über einen neuen, aus hämolysierenden Streptokokken dargestellten toxischen proteinartigen Körper

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät

der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt am 30. September 1939

von

Hermann Glosse

aus Heiligenstadt (Eichsfeld)

Gedruckt in der Brunn'schen Buchdruckerei, Heiligenstadt (Eichsfeld)

Dekan: Professor Dr. R. Stich

Berichterstatter: Professor Dr. F. Schütz

Tag der mündlichen Prüfung: 15. März 1940

Einleitung

Vor ungefähr vier Jahren erschien das Prontosil, ein hellroter Farbstoff, der chemisch das salzsaure Salz des 4-Sulfonamid — 2,4-diaminoazobenzols darstellt, in dem Handel. In der Zwischenzeit kamen hierzu noch einige andere prontosilartige Körper, so daß im Augenblick folgende drei Prontosile zur Verfügung stehen:

Prontosilum album (Prontalbin) = p-Aminophenylsulfonamid;

Prontosilum solubile = Lösung des Dinatriumsalzes der 4-Sulfonamidophenylazo-7-acetylamino-1-oxynaphtalin-3,6-disulfosäure;

Prontosilum rubrum = 4-Sulfonamid-2,4-diaminoazobenzol.

Pharmakologisch ist Prontosil eine außerordentlich indifferente Substanz, die sowohl intravenös als auch subcutan injiziert werden kann und auch vom Magendarmkanal aus so gut resorbiert wird, daß sich genügend therapeutische Effekte durch Darreichung per os erreichen lassen (Schreus). Das Präparat, dem eine spezifische Wirkung gegen Streptokokkeninfektionen zukommt, ist ohne Zweifel z. Zt. als das beste Chemotherapeutikum gegen Erkrankungen dieser Art anzusehen. Daher findet sich auch in der Literatur der letzten Jahre eine Fülle klinischer Arbeiten, die über die Ergebnisse der Prontosil-Anwendung bei den verschiedensten Streptokokkenerkrankungen berichten.

So erzielte z. B. Schreus hervorragende Resultate beim Erysipel. Schon nach 2—3tägiger Behandlung waren Rückgang der Temperatur und Entzündungserscheinungen eingetreten. Auf Grund klinischer Erfahrungen wird die Anwendung von Prontosil bei Puerperalsepsis, schweren Anginen, peritonsillären Abszessen, bei akuter und chronischer Polyarthritis, akuter und chronischer Endokarditis u. a. von einer Reihe bekannter Kliniker empfohlen. Das Anwendungsgebiet ist aber nicht nur streng auf Streptokokkeninfektionen begrenzt, sondern auch bei Coliinfektionen der Harnwege (Bürgers) und bei Staphylokokkeninfektionen ist ohne Zweifel eine gewisse günstige Wirkung vorhanden.

Bei Betrachtung dieser Erfolge drängt sich die Frage auf, welcher Art die Wirkung des Prontosils im Organismus sei, um zu solchen Ergebnissen führen zu können. Unzählige Versuche in vitro und in vivo wurden angestellt, um diese Frage

klar und eindeutig beantworten zu können. Das bisherige Ergebnis der Vitro-Versuche war lediglich die Feststellung, daß Prontosil gegenüber Streptokokken keine besonders auffällige Wirkung zeigt, daß es also, wie ein echtes Chemotherapeutikum, nur im lebenden Organismus einen Einfluß auszuüben vermag. Wenn Nitti, Bovet und Depièrre die Befunde von Colebrook, Buttle und O'Meare, nach denen das p-Aminophenylsulfamid unter bestimmten Bedingungen auf den hämolytischen Streptokokkus in vitro eine hemmende und sogar bakterizide Wirkung ausübt, bestätigen, so tritt dieser Befund gegenüber den vielen negativen Ergebnissen doch stark in den Hintergrund. Auch durch das Tierexperiment gelang es bis heute noch nicht, eine klare Antwort über den Wirkungsmechanismus des Prontosil zu geben.

Levaditi erklärt ihn so, daß das Prontosil die Kapselbildung der Streptokokken im Organismus verhindere und damit die schädliche Wirkung von Leukozidin und Hämolysin aufhebe.

Nach Fuller soll die Wirkung dadurch bedingt sein, daß bei dem Prontosil solubile im Körper eine Reduktion zu Diaminoazobenzolsulfonamid stattfindet.

Auf deutscher Seite waren es vor allem Domagk und Bürgers, die in umfangreichen Arbeiten den Wirkungsmechanismus zu klären suchten. Aber auch ihnen gelang noch keine restlose Klärung des Problems. Die Auffassung Domagk's ist folgende: „Es handelt sich nicht um eine unspezifische Reizwirkung etwa auf das retikuloendotheliale System, sondern um ein spezifisches Angreifen am Erreger. Die Streptokokken werden zwar nicht in allen Fällen abgetötet, aber doch soweit verändert, daß ihre endgültige Vernichtung dadurch möglich wird, daß die im Blut vorhandenen weißen Blutkörperchen und gewebsständigen Entzündungszellen die geschädigten Keime phagozytieren und verdauen. So bleibt dem Organismus immer noch ein wesentlicher Anteil an der endgültigen Vernichtung der Keime. Die Heilung erfolgt also letzten Endes durch einen natürlichen Heilvorgang, der unter der Wirkung der neuen Medikamente selbst dann noch zur Heilung führt, wenn der unbehandelte Organismus in seiner natürlichen Abwehr bereits erlegen wäre".

Bürgers faßt das Ergebnis seiner Untersuchungen folgendermaßen zusammen:

1) Die Wirkung von Prontosil S und ähnlicher komplexer Körper beruht nicht auf der Abspaltung von bakterizidem Sulfanilamid, weil

a) im Körper mehr azetyliertes Sulfanilamid entsteht;

b) Prontosil S und album in gleicher Weise infizierte Tiere schützt, obwohl deren Blut niemals dadurch bakterizid wird oder Jmmunkörper vermehrt enthält;

c) eine stärkere bakterizide Wirkung von Sulfanilamid im Reagenzglas nicht zu beobachten ist. Es kann nur eine nach Stamm verschiedene gewisse schädigende Wirkung festgestellt werden, welche durch Aufnahme von Prontosil in die Zelle bewirkt wird;

d) in zahllosen Versuchen eine Blutbakterizidie von gesunden oder kranken behandelten Personen nicht zu beobachten war, und auch das Blut von gesunden und kranken unbehandelten Personen durch Zusatz von Prontosil S oder album nicht bakterizider wird;

e) der Einfluß von Prontosil S und album auf die Intrakutaninfektion der gleiche ist.

2) Der Mechanismus der Prontosilwirkung beruht sowohl in einer Schädigung der Streptokokkenzelle, in welche Prontosil eindringt und besonders die Giftbildung lähmt, und vielleicht, was aber noch nicht absolut sicher bewiesen ist, eine Kapselbildung der hämolysierenden Streptokokken verhindert, andererseits darauf, daß die zelluläre Abwehrfunktion mobilisiert wird. Inwieweit der Einfluß des Prontosils auf die zelluläre und bakterielle Atmung eine Rolle spielt, bedarf noch der Klärung".

Aufgabe dieser Arbeit, die im Rahmen größerer noch unveröffentlichter Untersuchungen an unserem Institut über den Wirkungsmechanismus des Prontosils liegt, ist es, erstens in Reagenzglasversuchen den Einfluß von Prontosil auf das Fibrinolysin hämolysierender Streptokokken — das nach Schmidt als Eiweißkörper anzusprechen ist — zu prüfen, zweitens im Tierversuch die Wirksamkeit von Eiweißstoffen, die aus den Zelleibern hämolysierender Streptokokken isoliert wurden, zu untersuchen und bei evtl. Toxizität festzustellen, ob das Prontosil diese zu beeinflussen vermag.

I.

Der Einfluß von Prontosil auf die Fibrinolyse im Reagenzglasversuch.

Aus menschlichen Streptokokkenerkrankungen gezüchtete hämolysierende Streptokokken haben in mehr oder weniger großem Maße die Fähigkeit, menschliches Fibrin zu lösen. Die fibrinlösende Substanz (Fibrinolysin) befindet sich in der Kulturflüssigkeit, aus der sie durch geeignete Methoden als Trockenpräparat zu gewinnen ist. Nach Schmidt kann das Lysin im nativen Kulturfiltrat bei ph 6,7 — 7,5 der Hitzeeinwirkung von 100° widerstehen, wird aber bei dieser Temperatur bei einer ph 5,5 und 8,5 schnell zerstört. Es ist nicht dialysabel, gibt positive Biuretreaktion und wird durch Trypsin und Papain inaktiviert. Es hat demnach, wie auch Trypsin, Pepsin und Urease Eiweißcharakter. Den abzentrifugierten Streptokokken selbst fehlt die Fähigkeit der Fibrinolyse (Tillet und Garner). Gibt man also zu menschlichem Fibrinogen eine gewisse Menge Fibrinolysin und weiterhin Thrombin, so wird es anfangs zu einer Gerinnung und in der Folge durch Wirkung des Fibrinolysin wieder zu einer Lyse kommen. Eine der Aufgaben dieser Arbeit war es festzustellen, welchen Einfluß ein Zusatz von Prontosil zum Fibrinogen-Fibrinolysin-Thrombin-System auf den Ablauf der Fibrinolyse hat.

Herstellung von Thrombin, Fibrinogen, Fibrinolysin.

Die Herstellung von Thrombin, Fibrinogen und Fibrinolysin lehnte sich eng an die Angaben von H. Schmidt bzw. Tillet und Garner.

Thrombin: 1 ccm Plasma wurde im Verhältnis 1:10 mit eiskaltem Aqua dest. verdünnt. In der Kälte ließen wir langsam CO_2 bis zur Trübung durchperlen. Darauf wurde 10 Minuten scharf in gekühlten Zentrifugenröhrchen zentrifugiert. Der Bodensatz wird in 7,8 ccm NaCl-Lösung aufgenommen und anschließend zwei Tropfen einer 10%igen Natriumbikarbonatlösung zugesetzt. Nach völliger Lösung des Bodensatzes wurden 0,8 ccm $CaCl_2$-Lösung hinzugegeben. Nach ungefähr einer Stunde hatte sich ein feines Koagulum gebildet, das sich mit einem Glasstäbchen leicht entfernen ließ. Die nunmehr klare Flüssigkeit stellt das Thrombin dar.

Fibrinogen: Zu n ccm Plasma wurden n/3 ccm einer gesättigten Amoniumsulfatlösung tropfenweise gegeben, zentrifugiert und dann der Niederschlag mehrere Male mit einer 25%igen Amo-

niumsulfatlösung abgespült. Mittels Pipette wurden alle Ammoniumsulfatreste abgesogen und darauf der Bodensatz in n ccm NaCl-Lösung aufgenommen. 0,5 ccm dieser Fibrinogenlösung gerann innerhalb einer Minute beim Zusatz von 0,1 ccm Thrombin.

Fibrinolysin: Zur Herstellung des Fibrinolysins wurde ausschließlich der Streptokokkenstamm 1321 benutzt, der auch bei den anderen in unserem Institut laufenden Prontosilarbeiten verwandt wurde. Seine Pathogenität für eine etwa 20 gr schwere weiße Maus betrug etwa 0,1 ccm 24stündiger Bouillonkultur. Auf Grund der Angaben von Schmidt benutzten wir eine 2%ige Traubenzuckerbouillon als Nährboden. Die Ausbeute aus dieser Bouillon beträgt zwar nur $^1/_6$ der einer 20%igen Serumbouillon, jedoch löst eine bestimmte Menge eines aus 2%iger Traubenzuckerbouillon gewonnenen Präparates zehnmal besser als die gleiche Menge eines aus 20%iger Serumbouillon erhaltenen Fibrinolysinpulvers.

$^1/_2$ L 2%iger Traubenzuckerbouillon wurde mit dem erwähnten Stamm beimpft und 14 bis 16 Stunden bei 37° bebrütet. Die Kultur wurde nach vorhergehender Prüfung auf Reinheit 15 Min. scharf zentrifugiert und dann die überstehende Flüssigkeit von dem festhaftenden Streptokokkenbodensatz abgegossen. Zur abgegossenen Flüssigkeit wurden 2¼ Liter Methylalkohol gegeben, worauf schlagartig eine kräftige Eiweißfällung eintrat. Hierauf wurde wiederum 5 Min. scharf zentrifugiert und der abzentrifugierte Niederschlag dreimal je 10 Min. mit Aethylalkohol und schließlich dreimal je 5 Min. mit Aether gewaschen und an der Luft bei Zimmertemperatur getrocknet. Das so gewonnene Trockenpräparat des Fibrinolysins war bei lichtgeschützter Aufbewahrung lange Zeit haltbar, ohne etwas von seiner Wirkungskraft einzubüßen.

Bei wiederholter Herstellung des Trockenpräparates, wobei immer eine 2%ige Traubenzuckerbouillon benutzt wurde, war überraschenderweise die Ausbeute an Pulver nicht immer die gleiche. So betrug sie in einigen Fällen aus 0,5 Liter 2,9 gr (Pulver 1), in anderen wiederum bei gleicher Bouillonmenge 2,2 gr (Pulver II) und 0,73 gr (Pulver III). Da aber in jedem Fall mit dem gleichen Stamm und mit den gleichen Mengen Alkohol und Aether gearbeitet wurde, die Ausbeute aber aus den Kulturen, deren 2%ige Traubenzuckerbouillon in demselben Arbeitsgang hergestellt, mengenmäßig dieselbe war, konnten die jeweils verschiedenen Mengen an Pulver nur durch die jeweils verschiedene Zusammensetzung der 2%igen Trau-

benzuckerbouillon bedingt sein. Wie mehrere Versuche ergaben, war die Menge des gewonnenen Pulvers vom Eiweißgehalt der 2%igen Traubenzuckerbouillon abhängig. Je höher nämlich der Eiweißgehalt war, umso größer war auch die gewonnene Menge Pulver.

Prüfung der Fibrinolysinpräparate auf lytische Wirkung.

Zur Prüfung der einzelnen Pulver auf ihre lytische Fähigkeit wurden je 0,1 gr von Pulver I, II, III in je 0,6 ccm einer 0,85%igen NaCl-Lösung gelöst. Darauf wurden von jedem der so gelösten Pulver laufende Verdünnungsreihen hergestellt. Da sich in Vorversuchen, die zur Feststellung der Fibrinogen- und Thrombinwirkung dienten, eine Menge von 0,3 ccm Fibrinogen + 0,3 ccm Thrombin, bei einem Gesamtvolumen von 1,4 ccm als die wirksamsten erwiesen hatten, wurde auch in diesem Versuch mit den gleichen Mengen gearbeitet. Jedes Reagenzglas wird also mit 0,3 ccm Fibrinogen und darauf mit 0,4 ccm einer 0,85%igen NaCl-Lösung beschickt, dann 0,4 ccm der entsprechenden Fibrinolysinverdünnung zugesetzt und nach gutem Durchmischen des Inhaltes zuletzt 0,3 ccm Thrombin hinzugefügt. Darauf wurden sämtliche Röhrchen in ein Wasserbad von 40° gestellt, wo in kurzer Zeit Gerinnung des Inhaltes eintrat. Nach einem Aufenthalt von 45 Min. im Wasserbad wird dann Gerinnung bzw. Lösung abgelesen.

Im folgenden ist das Prüfungsergebnis von Pulver I, II, III tabellarisch zussammengefaßt.

Pulver I (Ausbeute 2,9 gr)

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
NaCl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	1:674,4	1:944,2	1:1321,9	1:1850,7	—
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Lyse	++++	++++	++++	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Pulver II (Ausbeute 2,2 gr)

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
NaCl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	1:674,4	1:944,2	1:1321,9	1:1850,7	—
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Lyse	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—	—	—	—	—

Pulver III (Ausbeute 0,73 gr)

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
NaCl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	1:674,4	1:944,2	1:1321,9	1:1850,7	—
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Lyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—

— = ganz fest; ++ = halbes Volumen noch fest; ++++ = glatte Lösung.

Aus den Tabellen ergibt sich, daß sämtliche drei Präparate imstande sind, Lyse zu erzeugen, jedoch in ihrer Wirksamkeit Unterschiede aufweisen. Bei der größten Ausbeute an Fibrinolysin ist die lösende Wirkung am geringsten und steigt mit fallender Ausbeutemenge.

Von Präparat I beträgt die mindest wirksame Dosis zur Erzielung einer glatten Lyse 0,00051 gr, vom Präparat II 0,00036 gr, bei Präparat III genügten noch 0,000067 gr für eine glatte Lösung, womit es scheinbar gelang, ein noch konzentrierteres Fibrinolysinpräparat als H. Schmidt zu gewinnen, der 0,0004 gr eines aus 2%iger Traubenzuckerbouillon hergestellten Präparates benötigte, um eben noch Lyse zu erzielen. Beim Vergleich der einzelnen drei Präparate untereinander ergibt sich, daß die Gesamtausbeute des Präparates I die des Präparates III zwar um das Vierfache übersteigt, daß aber die lösende Wirkung von Präparat III siebenmal größer ist als I, daß ferner die Gesamtausbeute an Präparat II dreimal größer ist als die von III, andererseits Präparat III eine fünffach bessere Wirkung besitzt als II. Da das wirksamste Präparat III aus eiweißarmer 2%iger Traubenzuckerbouillon gewonnen wurde, scheint diese zur Herstellung von konzentrierten Fibrinolysinpräparaten am geeignetsten zu sein.

Hauptversuch.

Im Hauptversuch wurde die Wirkung eines Zusatzes von Prontosil album zum Fibrinogen-Fibrinolysin-Thrombin-System geprüft. Mit folgenden Möglichkeiten war zu rechnen:

1) Schwächung der Lyse
2) Verstärkung der Lyse
3) völlige Aufhebung der Lyse
4) der Prontosilzusatz ist ohne jeden Einfluß auf die Lyse.

In diesem Versuch wurde nur mit dem Fibrinolysinpräparat II, das im Vorversuch bei einer Verdünnung 1:175,6 noch glatt gelöst hatte, gearbeitet. Die Versuchsanordnung unterschied sich vom Vorversuch nur darin, daß anstelle von 0,4 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung 0,4 ccm einer Lösung von Prontosil album zugesetzt wurde. Mit einer Prontosilkonzentration von 0,2% wurde im Reagenzglasversuch begonnen, und zwar wurden 0,4 ccm einer 0,7%igen Prontosillösung zugesetzt, da dann in einem Gesamtvolumen von 1,4 ccm die Prontosilkonzentration 0,2%

beträgt. Jm Kontrollversuch wurde die 0,7 %ige Prontosillösung durch eine gleichmolare NaCl-Lösung, also durch eine 0,232-%ige, ersetzt. Außer 0,7 %iger Prontosillösung wurde in gleicher Weise die Wirkung eines Zusatzes von 0,05 %iger, 0,07 %iger, 0,3 %iger, 0,5%iger und 1 %iger Prontosillösung zum Fibrinogen-Fibrinolysin-Thrombin-System geprüft.

Im folgenden seien einige Versuchsergebnisse mitgeteilt:

Kontrolle

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0 3	0,3	
NaCl	0,4	0,4	0 4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	← 0 232 %
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7		
Thrombin	0 3	0,3	0 3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—	

Hauptversuch

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Prontosil	0,4	0,4	0 4	0,4	0,4	0,4	0.4	← 0 7 %
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	—	—	—	

Kontrolle

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
NaCl	0,4	0,4	0,4	0,4	0 4	0,4	0,4	0,4	← 0,0232 %
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7		
Thrombin	0,3	0 3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—	

Hauptversuch

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Prontosil	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	← 0,07 %
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	++	—	—	

Kontrolle

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0.3	0,3	0,3
NaCl	0 4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4 ← 0,35 %
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	—
Thrombin	0 3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0.3
Lyse	++++	++++	++++	++++	++	-	—	—

Hauptversuch

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0.3	0,3	0,3	
Prontosil	0,4	0,4	0,4	0 4	0.4	0,4	0,4	← 1 %
Fibrinolysin	1:64	1:89,6	1:125,4	1:175,6	1:245,8	1:344,1	1:481,7	
Thrombin	0,3	0.3	0,3	0,3	0,3	0,3	0 3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	++	—	—	

Ablesung nach 45 Min. im Wasserbad bei 40°.

— = ganz fest; ++ = halbes Volumen noch fest; ++++ = glatte Lösung.

In eindeutiger Weise läßt die Tabelle erkennen, daß die verschiedenen Prontosilzusätze ohne Einfluß auf die Fibrinolyse waren. Auch bei den weiter geprüften Prontosilkonzentrationen 0,05%, 0,3%, 0,5% unterschieden sich Hauptversuch und Kontrolle nicht voneinander.

Während bei dieser Versuchsanordnung die Prontosilmenge konstant war, die Fibrinolysinmenge aber variierte, wurde bei einer anderen mit konstanten Fibrinolysin-, jedoch mit schwankenden Prontosilmengen gearbeitet. Die Fibrinogen- und Thrombinzusätze blieben die gleichen wie im vorigen Versuch. An Fibrinolysin wurden 0,4 ccm der Verdünnung, die im Vorversuch noch glatt gelöst hatte, zugesetzt, da wieder mit Präparat II gearbeitet wurde, also 0,4 ccm einer Verdünnung 1:175,6. Prontosil wurde in fallenden Mengen von 0,4 ccm bis 0,05 ccm zugegeben. Die Auffüllung des Volumens zu 1,4 ccm geschah durch gleichmolare Kochsalzlösung. Folgende Prontosilkonzentrationen wurden geprüft: 0,05 % 0,07 %, 0,3 %, 0,5 %, 0,7 %, 1 %.

Die Tabelle bringt einige der Versuchsergebnisse:

Fibrinogen	0.3	0,3	0,3	0 3	0,3	0.3	0,3	0,3	0.3	
NaCl	-	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	← 0,023 %
Prontosil	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0.15	0,1	0,05	–	← 0,07 %
Fibrinolysin	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	Verdünnung 1 175,6
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0 3	0.3	0.3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0.3	0,3	0,3	0,3	
NaCl	—	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0.35	0,4	← 0,232 %
Prontosil	0,4	0,35	0,3	0,25	0 2	0,15	0,1	0,05	–	← 0,7 %
Fibrinolysin	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	Verdünnung 1 175,6
Thrombin	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

Fibrinogen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0.3	0,3	
NaCl	–	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0.35	0 4	← 0,35 %
Prontosil	0,4	0,35	0,3	0 25	0.2	0,15	0,1	0,05	—	← 1 %
Fibrinolysin	0,4	0.4	0,4	0.4	0.4	0.4	0,4	0,4	0,4	Verdünnung 1 175
Thrombin	0 3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0 3	
Lyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

Ablesung nach 45 Minuten im Wasserbad bei 40°
++++ = glatte Lösung

Auch bei dieser Versuchsanordnung hatte ein Prontosilzusatz zum Fibrinogen-Fibrinolysin-Thrombin-System keinerlei hemmenden Einfluß auf die Lyse. Die weiter noch geprüften Prontosilkonzentrationen 0,05 %, 0,3 %, 0,5 % ließen ebenfalls jede entsprechende Wirkung vermissen.

II.

Untersuchungen von isolierten Eiweißkörpern aus den Zelleibern hämolysierender Streptokokken.

Technik: Die Darstellung von Eiweißkörpern bzw. Kohlehydraten aus hämolysierenden Streptokokken geschah in enger Anlehnung an die von Sevag bei Pneumokokken angewandte Arbeitsmethode.

60 Liter Pferdefleischbouillon mit 0,3 % Dextrose und 10 % Serumgehalt wurden in Flaschen zu je 2,5 Liter abgefüllt. Jede der 2,5 Liter wurde weiter mit 10 ccm einer 24stündigen Kultur des hämolysierenden Streptokokkenstammes 1321 beimpft. Nach 18stündiger Bebrütung bei 37° wurde zentrifugiert, der Streptokokkenbodensatz mit NaCl-Lösung gewaschen und anschließend im Exsikator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Die 32 gr betragende Streptokokkenausbeute wurde mit 75 ccm Wasser zu einer dicken Paste verrieben und zehnmal durch flüssige Luft zum Einfrieren mit nachfolgendem Auftauen gebracht. Das so vorbehandelte Bakterienmaterial wurde in einer Mischung von 1500 ccm Aqua dest., 300 ccm Chloroform und 100 ccm Amylalkohol suspendiert, 15 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und darauf scharf zentrifugiert. Die überstehende getrübte Flüssigkeit wurde abgegossen und aufbewahrt, das Chloroform und Amylalkohol enthaltende Bakteriensediment noch zweimal in derselben Weise mit 1500 ccm Wasser, 300 ccm Chloroform und 100 ccm Amylalkohol geschüttelt und zentrifugiert. Die überstehenden Lösungen wurden mit der ersten vereinigt und bei 30—40° im Faust-Heimschen Apparat eingedampft. Darauf wurde der Rückstand in 500 ccm Wasser, 100 ccm Chloroform und 30 ccm Amylalkohol aufgenommen, 15 Stunden geschüttelt, zentrifugiert und das eiweißhaltige Sediment entfernt und aufbewahrt. Die überstehende, größtenteils Kohlehydrate enthaltende Flüssigkeit wurde noch so oft mit Chloroform und Amylalkohol geschüttelt, bis nach dem Zentrifugieren die Chloroformschicht keine sichtbare Fällung mehr aufwies. Die jeweiligen Eiweißausfällungen wurden der ersten zugefügt. (Die Isolierung dieser proteinartigen Körper erfolgte im Zusammenhang mit anderen bisher noch unveröffentlichten Arbeiten von Preuner über den Wirkungsmechanismus des Prontosil.) Das gesammelte eiweißhaltige Sediment wurde im Exsikator über Phosphorpentoxyd getrocknet und im Mörser zu Pulver verrieben. Die gewonnene Pulvermenge betrug 3,30 gr. Um noch vorhandene Kohlehydrate aus dem Pulver zu ent-

fernen, wurde dasselbe in 100 ccm Aqua dest. aufgenommen, 15 Stunden geschüttelt und anschließend zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit, die Eiweiß in kolloidaler Lösung enthielt, wurde vom Eiweißbodensatz abgegossen und aufbewahrt (Eiweißfraktion B). Da sich bei der Untersuchung dieser Fraktion ein geringer Kohlehydratgehalt nachweisen ließ (noch schwach positive Molisch-Reaktion) und derselbe trotz mehrerer Versuche nicht zu beseitigen war, wurde die Eiweißlösung in dieser Form in den folgenden Versuchen benutzt.

Der Bodensatz wurde mehrere Male mit Aqua dest. gewaschen und zentrifugiert, bis in der überstehenden Flüssigkeit keine Kohlehydrate mehr nachzuweisen waren. Das nunmehr kohlehydratfreie Sediment wurde anschließend in 100 ccm Aqua dest. aufgenommen (Eiweißfraktion A).

A. Die Wirkung der Eiweißfraktionen A und B im Tierversuch.

Die Prüfung der Eiweißfraktionen A und B im Tierversuch geschah durch i. p. Injektion bei weißen Mäusen. Beide Fraktionen waren in ihrer Wirkung toxisch, und zwar lag die kleinste letale Dosis sowohl für A als auch für B bei 0,2 ccm für etwa 20 gr schwere Mäuse. Da 1 ccm der Eiweißfraktion A 16 mgr, 1 ccm der Eiweißfraktion B 9 mgr Trockensubstanz enthielt, entsprach dies bei 0,2 ccm A einem Trockensubstanzgehalt von 3,2 mgr, bei 0,2 ccm B einem von 1,8 mgr. Obwohl der Gehalt an Trockensubstanz bei B fast um die Hälfte kleiner war als der bei A, trat der Tod bei den mit Fraktion B behandelten Tieren 1—2 Stunden früher ein als bei den entsprechend mit Fraktion A behandelten. Man könnte hiernach vermuten, daß eine Kombination von Eiweiß und Kohlehydraten verstärkend auf die Toxizität wirkt. Daß diese Verstärkung nicht auf einer zusätzlichen Kohlehydratwirkung beruhen kann, ist nach den Versuchsergebnissen von Preuner (noch nicht veröffentlicht), der Mäuse mit verschiedenen reinen Kohlehydratfraktionen, welche im selben Arbeitsgang hergestellt waren, behandelte und dabei keine sichere toxische Wirkung nachweisen konnte, wohl anzunehmen.

Nachfolgende Tabelle bringt eine der Versuchsserien.

Maus	Dosis	Befund	Herzblut
1	0,6 ccm A	tot nach 6 Std.	steril
2	0,5 „ „	„ „ 6 „	„
3	0,4 „ „	„ „ 7 „	„
4	0,3 „ „	„ „ 7 „	„
5	0,2 „ „	„ „ 8 „	„
6	0,1 „ „	lebt	—
7	0,05 „ „	„	—
8	0,025 „ „	„	—
9	0,6 „ B	tot nach 4 Std.	steril
10	0,5 „ „	„ „ 4 „	„
11	0,4 „ „	„ „ 4 „	„
12	0,3 „ „	„ „ 5 „	„
13	0,2 „ „	„ „ 7 „	„
14	0,1 „ „	lebt	—
15	0,05 „ „	„	—
16	0,025 „ „	„	—

Unmittelbar nach der Injektion beobachteten wir bei fast allen Mäusen hochgradige Atemnot und ein starkes Nachschleifen der hinteren Extremitäten. Der Sektionsbefund ergab bei allen eingegangenen Tieren stark blutgefüllte Abdominalorgane und auffallende Zeichnung der Gefäße. Exsudat war nicht vorhanden. Die Milz erschien selten etwas vergrößert, doch war sie durchweg etwas mürbe und tief rot gefärbt. An den übrigen Abdominalorganen war makroskopisch keine Veränderung feststellbar. Gleichfalls waren in der Brusthöhle außer einer starken Füllung der Gefäße keine Veränderungen nachweisbar. Die bakteriologische Untersuchung fiel in jedem Falle negativ aus.

Um den Charakter der Eiweißkörper etwas näher definieren zu können, wurden sie auf eventuelle Fibrinolyse und Hämolyse geprüft. Bei beiden war das Ergebnis negativ. Ein halbstündiges Erhitzen auf 56° und 80°, ebenso ein einminutiges

auf 100° zerstörte die toxische Wirkung vollkommen. Ausfällung oder sonstige sichtbare Veränderungen waren beim Erhitzen nicht feststellbar. Bei Aufbewahrung im Eisschrank blieb die toxische Wirkung wochenlang erhalten.

B. Immunbiologische Wirksamkeit.

Um zu beweisen, daß es sich bei den von uns isolierten Eiweißfraktionen A und B um spezifische Streptokokkentoxine handelte, wurden beide auf ihre immunbiologische Wirksamkeit geprüft.

I. Komplementbindungsversuch.

Der Komplementbindungsversuch diente der Untersuchung, ob im Serum eines mit Streptokokkenstamm 1321 vorbehandelten Kaninchens spezifische Antikörper gegen beide Eiweißfraktionen vorhanden sind. (Das Kaninchen war in Abständen von 4 Tagen mit einer dünnen Aufschwemmung abgetöteter Streptokokken Stamm 1321 — 5 ccm NaCl-Lösung je Blutagarplatte — behandelt worden. Anfangs wurden Dosen von 0,5 ccm, später 1,0 ccm i. v. gegeben. Bei der 8. und 9. Injektion wurden 1,0 ccm einer dünnen Aufschwemmung lebender Streptokokken — von 24stündiger Blutplattenkultur — in NaCl-Lösung gespritzt. Hierauf erfolgte die Entblutung des Tieres.) Das Serum hatte einen agglutinierenden Titer von 1/12800. In Vorversuchen wurde es in einer Verdünnung von 1/5 benutzt; es zeigte jedoch auch noch befriedigende Resultate in Verdünnungen von 1/50. Bei der Versuchsanordnung richteten wir uns nach den Angaben von Lee und Schow.

Von beiden Eiweißfraktionen wurden Verdünnungsreihen hergestellt. 0,5 ccm der Eiweißverdünnungen wurden mit 0,5 ccm Serumverdünnung 1/50 angesetzt. Nach einem Aufenthalt von 30 Min. im Wasserbad bei 37° wurden 0,5 ccm Meerschweinchenkomplement hinzugesetzt und das Ganze über Nacht im Eisschrank belassen. Am nächsten Tag wurde das hämolytische System hinzugefügt und nach einer Lösungszeit von 30 Min. bei 37° im Wasserbad konnte der Versuch abgelesen werden. Das Komplement wurde so verdünnt, daß es etwa 2 minimalhämolytische Dosen enthielt. Im hämolytischen System befand sich eine Ambozeptorverdünnung, die 4 minimal-hämolytische Dosen enthielt.

Im Folgenden ist das Versuchsergebnis tabellarisch zusammengefaßt.

	Fraktion A		Fraktion B	
Verdünnung	Kan. Serum 1321	Kontroll-Serum	Kan Serum 1321	Kontroll-Serum
1/5	++++	—	++++	—
1/10	++++	—	++++	—
1/20	++++	—	++++	—
1/40	++++	—	++++	—
1/80	++	—	++++	—
1/160	—	—	—	—
1/320	—	—	—	—
1/640	—	—	—	—

++++ = vollständige Hemmung der Hämolyse
++ = teilweise Hämolyse
— = glatte Hämolyse

Aus der Tabelle geht hervor, daß sich im Serum des mit Streptokokkenstamm 1321 vorbehandelten Kaninchens Antikörper befinden, die in der Lage sind, mit den Eiweißfraktionen A und B spezifische Bindungen einzugehen. Bei Fraktion A tritt noch Bindung in einer Verdünnung 1/40 und teilweise Bindung bei 1/80 ein. Das entspricht einem Proteingehalt von 0,2 — 0,1 mgr. Auf Grund des positiven Komplementbindungsversuches beider Fraktionen kann man wohl annehmen, daß bei dem Isolierungsprozeß der Eiweißkörper eine strukturelle Veränderung, die von Einfluß auf ihren Haptencharakter gewesen sein könnte, nicht eingetreten ist.

II. Untersuchung auf antigene Wirkung.

Weißen Mäusen, die in Vorversuchen mit geringen, nicht tödlichen Dosen der Eiweißfraktion A und B behandelt waren, wurden 6 bis 7 Tage später sicher letale Dosen (von 0,2 ccm aufwärts) gegeben. Von sämtlichen Versuchstieren wurden 0,4 ccm von Fraktion A und B vertragen. Die Krankheitserscheinungen waren nur gering. Oberhalb dieser Mengen trat der Tod ein, allerdings erst nach 15 bis 25 Stunden.

Beiden Eiweißfraktionen kommt demnach bei dieser Art der Vorbehandlung, nämlich bei einer einmaligen Injektion einer schwach subletalen Dosis, ein deutlicher, wenn auch ziemlich geringer immunisierender Effekt zu.

In weiteren Versuchen wurde geprüft, ob bei mit Eiweißfraktion A und B vorbehandelten Mäusen eine Immunität gegen den Streptokokkenstamm 1321 vorhanden ist. (Aus Materialmangel mußten wir uns, im Gegensatz zu allen übrigen Tierversuchen, in diesem Falle leider mit einer Versuchsserie von 19 Tieren begnügen.)

Den Tieren wurden von 0,1 ccm aufwärts steigende Mengen einer 24stündigen Kultur gegeben. Während die unvorbehandelten Kontrollmäuse sämtlich nach 12 Stunden eingegangen waren, überlebten die mit Fraktion A vorbehandelten Tiere noch Mengen bis zu 0,5 ccm der Streptokokkenkultur. Mit Fraktion B vorbehandelte Mäuse vertrugen als Höchstdosis 0,2 ccm (vergleiche nachstehende Tabelle).

Maus	Streptokokken-Dosis	Befund Std.
1 der Fraktion A	0,1 ccm	lebt
2 „ „ „	0,2 „	„
3 „ „ „	0,3 „	„
4 „ „ „	0,4 „	„
5 „ „ „	0,5 „	„
6 „ „ „	0,6 „	tot nach 20
7 „ „ „	0.7 „	„ „ 15
8 „ „ „	0,8 „	„ „ 12
1 „ „ B	0,1 „	lebt
2 „ „ „	0,2 „	„
3 „ „ „	0,3 „	tot nach 20
4 „ „ „	0.4 „	„ „ 20
5 „ „ „	0,5 „	„ „ 20
6 „ „ „	0,6 „	„ „ 20
7 „ „ „	0,7 „	„ „ 12
8 „ „ „	0,8 „	„ „ 12
1 ———	0,1 „	„ „ 12
2 ———	0,2 „	„ „ 12
3 ———	0,3 „	„ „ 12

Nach dem Ergebnis dieser Versuchsserie scheint bei vorbehandelten weißen Mäusen auch eine Immunität gegen Streptokokken vorhanden zu sein. Der höher immunisierende Effekt der Fraktion A kann evtl. durch ihren größeren Gehalt an Trockensubstanz bedingt sein.

C. Die Wirkung des Prontosil auf die Eiweißfraktionen A und B.

I. Im Tierversuch.

Die Beeinflussung der Toxizität beider Eiweißfraktionen durch eine Prontosilbehandlung der Versuchstiere wurde in diesem Kapitel einer Prüfung unterzogen.

Weiße Mäuse wurden mit 0,3 ccm einer 0,25 %igen Lösung von Prontosil album vorbehandelt. Eine Stunde später wurden sicher letale Dosen von Eiweißfraktion A und B in steigender Menge gegeben. Im Kontrollversuch erhielten die Tiere statt Prontosil gleichmolare Kochsalzlösung.

Die folgende Tabelle bringt das Ergebnis einer Versuchsserie.

Hauptversuch

Maus	Dosis	Befund	Herzblut
1	0.3 ccm Prontosil + 0,6 A	tot nach 6 Std	steril
2	0,3 „ „ + 0.5 A	„ „ 6 „	„
3	0,3 „ „ + 0 4 A	„ „ 6 „	„
4	0,3 „ „ + 0,3 A	„ „ 8 „	„
5	0,3 „ „ + 0,2 A	„ „ 8 „	„
6	0,3 „ „ + 0,6 B	„ „ 4 „	„
7	0,3 „ „ + 0,5 B	„ „ 5 „	„
8	0,3 „ „ + 0,4 B	„ „ 4 „	„
9	0,3 „ „ + 0,3 B	„ „ 5 „	„
10	0,3 „ „ + 0,2 B	„ „ 6 „	„

Kontrolle

Maus	Dosis	Befund	Herzblut
1	0,3 NaCl + 0,6 A	tot nach 6 Std.	steril
2	0,3 „ + 0,5 A	„ „ 6 „	„
3	0,3 „ + 0,4 A	„ „ 8 „	„
4	0,3 „ + 0,3 A	„ „ 8 „	„
5	0,3 „ + 0,2 A	„ „ 8 „	„
6	0,3 „ + 0,6 B	„ „ 4 „	„
7	0,3 „ + 0,5 B	„ „ 4 „	„
8	0,3 „ + 0,4 B	„ „ 5 „	„
9	0,3 „ + 0,3 B	„ „ 6 „	„
10	0,3 „ + 0,2 B	„ „ 7 „	„

Das Ergebnis des Hauptversuches deckt sich fast vollkommen mit dem der Kontrolle. Die vorherige Prontosilbehandlung der Mäuse war demnach ohne Wirkung auf die Toxizität der Eiweißfraktionen.

Im letzten Versuch waren weiße Mäuse vor der Eiweißinjektion mit Prontosil behandelt worden. In einer anderen Versuchsanordnung wurden sie mit Eiweiß-Prontosilgemischen, die vorher 24 Stunden bei 37° bebrütet waren, gespritzt. Die Eiweiß- und Prontosildosen waren dieselben wie im vorigen Versuch. Die Kontrolltiere wurden mit einem Gemisch von Eiweiß-NaCl-Lösung behandelt.

Auch in diesem Versuch war keine Beeinflussung der Toxizität beider Eiweißfraktionen durch Prontosil nachzuweisen, denn die Prontosiltiere gingen fast gleichzeitig mit den Kontrollen ein.

II. Im Komplementbindungsversuch.

Im Komplementbindungsversuch wurde untersucht, von welchem Einfluß ein Zusatz von Prontosil album auf die spezifische Bindung zwischen Antikörpern aus dem Serum des mit Streptokokkenstamm 1321 vorbehandelten Kaninchens und den Eiweißfraktionen A und B ist, d. h. ob durch einen solchen Zusatz die Hämolyse beeinflußt wird. Die Versuchsanordnung gleicht im wesentlichen der schon früher beschriebenen.

Von Fraktion A und B wurden im Verhältnis 1/5 Verdünnungen hergestellt und zu gleichen Teilen mit einer 0,4 %igen Prontosillösung versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zur Kontrolle wurden gleiche Verdünnungen von beiden Eiweißfraktionen mit NaCl-Lösung versetzt und unter gleichen Bedingungen aufbewahrt. Von beiden Verdünnungen (mit und ohne Prontosilzusatz) der Fraktion A und B wurden Verdünnungsreihen hergestellt und dann nach der schon an anderer Stelle beschriebenen Methode der Versuch angesetzt.

Die Tabelle bringt das Versuchsergebnis:

	Fraktion A				Fraktion B			
	ohne Prontosil		mit Prontosil		ohne Prontosil		mit Prontosil	
Verdünnung	S. 1321	Kontr. S	S. 1321	Kontr. S.	S. 1321	Kontr. S.	S. 1321	Kontr. S.
1:160	++++	++++	++++	+++	++++	±	++++	±
11:320	++++	++	++++	+	++++	–	++++	–
1:640	++++	–	++++	–	++++	–	++++	–
1:1280	+++	–	+++	–	++++	–	++++	–
1:2560	+++	–	+++	–	+++	–	+++	–
1:5120	++	–	+++	–	+++	–	+++	–

++++ = völlige Hemmung der Hämolyse
+++ = fast vollständige Hemmung der Hämolyse
++ = halb gelöst
+ = schwache Hemmung der Hämolyse
± = Spuren von Hemmung
– = glatt gelöst

Aus der Tabelle geht hervor, daß sich die Versuchsreihen mit und ohne Prontosil fast vollständig gleichen; es ist uns also nicht gelungen, eine Wirkung von Prontosil auf die spezifische Bindung zwischen Antikörper und Eiweißfraktionen nachzuweisen.

Zusammenfassung.

I.

a) Es gelang nach den Angaben von Tillet und Garner bzw. Schmidt, Trockenpräparate des Fibrinolysins hämolysierender Streptokokken herzustellen. Eine eiweißarme 2 %ige Traubenzuckerbouillon scheint zur Herstellung konzentrierter Trockenpräparate am geeignetsten zu sein.

b) Ein Zusatz von Prontosil album zum Fibrinogen-Fibrinolysin-Thrombin-System beeinflußte in keiner Weise die Fibrinolyse.

II.

a) Nach den Angaben von Sevag wurden aus den Zelleibern hämolysierender Streptokokken eiweißartige Körper isoliert.

b) Die Eiweißfraktionen A und B wirkten in Dosen von 0,2 ccm aufwärts auf weiße Mäuse toxisch. Die stärkere Wirkung der Fraktion B dürfte vermutlich auf der Kombination von Eiweißkörpern und Kohlehydraten beruhen. Beide Fraktionen sind thermolabil. Sie besaßen keine hämolytische und fibrinolytische Fähigkeit.

c) Die Eiweißkörper der Fraktion A und B sind Vollantigene. Mit ihnen vorbehandelte weiße Mäuse waren immun bis zu Dosen von 0,4 ccm. Auch gegen den homologen Streptokokkenstamm scheint bei eiweißvorbehandelten Mäusen eine geringe Immunität vorhanden zu sein, und zwar bei den mit Fraktion A vorbehandelten Tieren stärker als bei denen mit Fraktion B.

d) Eine Prontosilbehandlung der Versuchstiere war ohne Einfluß auf die Toxizität der Eiweißfraktionen. Ebenso war im Komplementbindungsversuch ein Zusatz von Prontosil album ohne Wirkung auf die spezifische Bindung zwischen Antikörper und Eiweißfraktion A und B.

An dieser Stelle möchte ich nicht versäumen, Herrn Professor Dr. F. Schütz für die freundliche Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas vielmals zu danken. Ebenfalls danke ich Herrn Dr. R. Preuner für seine wertvollen Anregungen und Ratschläge.

Literatur

Bürgers : „Chemotherapie der Streptokokkenerkrankungen durch Prontosil."
Deutsche Med. Wochenschrift 1937

Bürgers : „Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Prontosilwirkung".
Deutsche Med. Wochenschrift 1938

Domagk : „Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen".
Deutsche Med. Wochenschrift 1935

Domagk : „Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Prontosil".
Dermatolog. Wochenschrift 1938

Gantenberg u. Thimme : „Erfahrungen mit Prontosil".
Med. Welt 1935

Groß, Paul

Cooper, F. B. and Peebles : „Effect of splenectomy on the therapeutic action of p-aminobenzenesulfonamide on mice infected with hemolytic streptococcus".
Ref. Zentralbl. für Bakt. u. Parasitenk. 1937

Habs : „Chemotherapeutische Versuche mit Prontosil".
Zeitschrift für Immunitätsforschung 1937

Hofmann : „Zur Frage der Wirkungsmöglichkeiten von Prontosil"
Ref. Zentralbl. für Bakt. u. Parasitenk.

Klee u. Römer: „Prontosil bei Streptokokkenerkrankungen".
Deutsche Med. Wochenschrift 1935

Lee, Kwan-huan and Chow **Bacon F. (Peiping, China)** „Determination of minute amounts of type I pneumoccocal polysaccharide by the complement-fixation method".
Ref. Zentralbl. für Bakt. u. Parasitenk. 1938

Montestruc, E: „Nouveaux essais de traitement des streptococcies par injektion de 1162 F en suspension huileuse".
Ref. Zentralbl. für Bakt. u. Parasitenkunde

Nitti, Bovet, Depièrre: „Wirkung der Derivate des p-Aminophenylsulfonamids auf die hämolytischen Streptokokken in vitro".
Ref. Zentralbl. für ges. Hygiene 1937

Recknagel, K: „Erfahrungen mit Prontosil".
Münchener Med. Wochenschrift 1935

Roth: „Heilung eines Falles von Streptokokkensepsis unter Prontosilbehandlung".
Deutsche Med. Wochenschrift 1935

Schmidt, H: „Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Streptokokken und der Eigenschaften des Antistreptokokkenserums".
Zeitschrift für Immunitätsforschung 1937

Schreus : „Chemotherapie des Erysipels und anderer Infektionen mit Prontosil"
Deutsche Med. Wochenschrift 1935

Sevag, M. G.: „Eine neue physikalische Enteiweißungsmethode zur Darstellung biologisch wirksamer Substanzen".
Biochem. Zeitschrift 1934

Lebenslauf

Am 5. März 1914 wurde ich zu Heiligenstadt (Eichsfeld) als Sohn des Verlagsleiters Lorenz Glosse geboren. Seit Ostern 1924 besuchte ich das humanistische Gymnasium meiner Vaterstadt, an dem ich 1934 die Reifeprüfung ablegte. Anschließend genügte ich der Arbeitsdienstpflicht.

Ostern 1935 begann ich in Göttingen mit dem Studium der Zahnheilkunde. Nach dem dritten Semester bestand ich dort das Physikum und nach dem siebenten Semester das Staatsexamen.